Die Nukleinsäuregehalte

verschiedener Gewebe der Ratte in Abhängigkeit von hohen Vitamin E-Konzentrationen des Blutes

Brigitte Jobsky

1962

Aus dem Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere
der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Dr. Johannes Brüggemann

Die Nukleinsäuregehalte verschiedener Gewebe der Ratte in Abhängigkeit von hohen Vitamin E-Konzentrationen des Blutes

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Brigitte Jobsky
aus Aussig

München 1962

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. K. Ullrich

Referent: Prof. Dr. Dr. Joh. Brüggemann

Tag der Promotion: 27. 2. 62

RIJKSUNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen Eltern

und

meinem Mann

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545804_0046

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	7
B. Literatur	8
1. Vorkommen und Bedeutung des Vitamins E unter besonderer Berücksichtigung der Vitamin E-Mangelsymptome	8
2. Vitamin E und seine Beziehung zu dem Vitamin A	11
3. Der Einfluß des Vitamins E auf den Stoffwechsel	11
C. Eigene Untersuchungen	14
Chemie der Nukleinsäuren	14
1. Prinzip des Versuchs	14
2. Versuchsanstellung	15
3. Aufarbeitung der Organe	15
4. Chemische Bestimmungsverfahren der Nukleinsäuren:	17
a) Reagenzien	17
b) Aufstellung der Eichkurven	18
c) Chemische Reaktion	18
5. Beispiel zur Berechnung der Nukleinsäurewerte mit statistischer Auswertung	20
D. Ergebnisse	24
E. Diskussion	38
F. Zusammenfassung	40
G. Literaturverzeichnis	41
Lebenslauf	43

A. Einleitung

Obwohl das Vitamin E bereits 1922 von Evans (1) im Weizenkeimöl entdeckt wurde, ist seine biochemische Wirkungsweise im tierischen Organismus bisher nur unvollkommen geklärt. Es ist daher nicht verwunderlich, daß in den letzten Jahren von zahlreichen Autoren der Versuch unternommen wurde, weitere Erkenntnisse über das Verhalten und die Auswirkungen dieses Vitamins im Organismus zu gewinnen.

So vermutet Abderhalden (2) auf Grund des von ihm geführten Vitamin E-Nachweises in verschiedenen Organen, daß dieses Vitamin allgemein an den Syntheseabläufen der Körperzellen beteiligt ist. Der Verfasser erörtert die Möglichkeit, daß der Vitamin E-Stoffwechsel der Zellen zentral durch die Nebennierenrinde reguliert wird. Durch Versuche von Tonutti (3) über die durch Vitamin E-Mangel ausgelösten Veränderungen der Nebenniere scheint diese Theorie gestützt zu werden.

Verschiedene Autoren, wie zum Beispiel Davies und Moore (4), stellen den Einfluß des Vitamins E auf die biochemische Wirkung anderer Vitamine in den Vordergrund ihrer Betrachtungen. In vergleichenden Versuchen an Ratten fanden sie, daß Vitamin A-Reserven in der Leber der Versuchstiere viel rascher abgebaut werden, wenn den Tieren außer Vitamin A auch Vitamin E vorenthalten wird. Werden den Tieren noch Zulagen von Vitamin E gegeben, so verzögert sich der Abbau des Vitamin A-Vorrats. Ebenfalls verursacht länger dauernder Vitamin E-Mangel in der Nahrung allmählichen Schwund der Vitamin A-Reserven des Körpers. Diese Wirkung des Vitamins E wird darauf zurückgeführt, daß es die Oxydation von Vitamin A und seinen Vorstufen, den biologisch aktiven Carotinoiden, im Darm und im intermediären Stoffwechsel verhindert. Dieser antioxydative Effekt des Vitamins E wurde durch Versuche von Moore (5), Bacharach (6) und Gillivray (7) bestätigt.

Biologisch gesehen, übt demnach das Vitamin E einen Spareffekt auf das im Organismus vorhandene Vitamin A aus. Es kann somit vermutet werden, daß das Vitamin E unter anderem auch eine Wirkung auf die Stoffwechselprozesse ausübt, die durch Vitamin A stimuliert werden.

Da in früheren Arbeiten des hiesigen Institutes (8) ein Einfluß des Vitamins A auf die Nukleinsäuregehalte verschiedener Gewebe der Ratte beobachtet werden konnte, erschien es interessant zu wissen, ob ähnliche Effekte auch für das Vitamin E nachzuweisen sind.

Aus diesen Gründen erhielt ich von Herrn Prof. Dr. Dr. Brüggemann die Aufgabe, den Einfluß hoher Vitamin-E-Dosierungen auf die Nukleinsäuregehalte verschiedener Rattengewebe zu studieren.

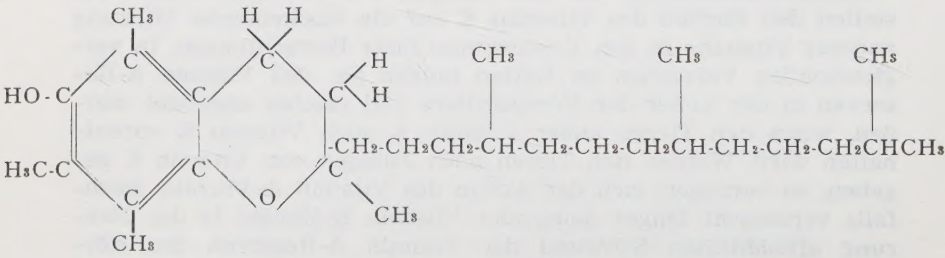
B. Literatur

1.) Vorkommen und Bedeutung des Vitamins E unter besonderer Berücksichtigung der Vitamin E-Mangelsymptome

Mit der Bezeichnung Vitamin E faßt man heute 6 Verbindungen zusammen, nämlich α, β, γ, δ, ε und ξ Tocopherol, die sich von einem in der Natur nicht vorkommenden Grundkörper, dem Tocol, durch Methylierung ableiten. Diese 6 Verbindungen gehören zu einer Gruppe von Hydrochinonabkömmlingen und unterscheiden sich durch Zahl und Stellung der Methylgruppen am aromatischen Kern.

Die Summenformel für α-Tocopherol lautet $C_{29}H_{50}O_2$.

Nachstehend ist die Strukturformel für das α-Tocopherol wiedergegeben. Es baut sich aus einem bizyklischen Grundkörper, dem



2, 5, 7, 8 Tetramethyl — 6 — oxy-chroman und einer terpenoiden Seitenkette auf, in der auch ein Bestandteil des Chlorophylls, das Phytol, zu erkennen ist.

Da es **ein** symmetrisches Kohlenstoffatom besitzt, kann es in zwei stereoisomeren Formen auftreten, nämlich als d-bzw. dl- α- Tocopherol.

Die biologisch wirksamste Verbindung ist das d-α-Tocopherol. Es ist ein blaßgelbes, zähfließendes Oel, das in Aether gut, in Aceton schlecht und in Wasser unlöslich ist. Gegen Hitze ist es sehr beständig, dagegen empfindlich gegenüber Sauerstoff und anderen oxydierenden Agentien, eine Eigenschaft, die alle Tocopherole besitzen.

Die Synthese des Tocopherols gelang 1938 Karrer, Fritsche, Ringier, Salomon (10) und Jakob, Todd und Work (11) unabhängig voneinander auf verschiedene Weise als dl-α-Tocopherol.

Die Tocopherole sind in der Natur weit verbreitet. Reich an Vitamin E sind pflanzliche Fette und Oele, sowie alle grünen Pflan-

zenteile und vor allem Keimlinge von Getreide und Baumwollsamen. Der Vitamin E-Gehalt von Weizen, Mais, Reis, sowie unserer einheimischen Hülsenfrüchte liegt etwa bei 2—3 mg%. Gebleichte oder gehärtete Fette enthalten kein oder nur ganz geringe Spuren von Vitamin E, da es bei den Vorgängen der Bleichung und Härtung durch Hitze, beziehungsweise katalytische Oxydation zerstört wird. Die Oxydation greift dabei primär an der Hydroxylgruppe des Tocopherolmoleküls an (2).

Die an Vitamin E reichste Pflanze ist die Hagebutte. Das aus Hagebutten gewonnene Oel hat einen Vitamin E-Gehalt von 2,5%.

Auch in fast allen tierischen Organen kommt Vitamin E vor. Eine Abhängigkeit des Vitamin E-Gehaltes in tierischen Organen von der Zufuhr dieses Stoffes durch die Nahrung, wurde durch Bratzler, Loosli, Krakowski und Maynard (12), Harris, Grady und Quaife (13) nachgewiesen. Bei Fischen ist die Anreicherung des Vitamins E in den Gonaden auffallend. Dorschrogen hat zum Beispiel einen Gehalt von 5—8 mg%. Trotz ihres hohen Vitamin E-Gehaltes eignen sich Fischöle aber nicht zur Deckung des Vitamin E-Bedarfes der Warmblüter, weil die in ihnen enthaltenen mehrfach ungesättigten Fettsäuren leicht Peroxyde bilden, die nicht nur das in den Oelen selbst befindliche, sondern auch nach ihrer Resorption das im Körper bereits vorhandene Vitamin E zerstören (12). Ueber welche Verbindungsstufen die Resorption der Tocopherole aus dem Darm und den Geweben in den Blutkreislauf erfolgt, ist noch weitgehend ungeklärt.

Die Erscheinungen, die bei Vitamin E-Mangel auftreten, sind für jede Tierart spezifisch. Bei der Ratte steht die gestörte Fruchtbarkeit der durch Vitamin E-Mangel ausgelösten Erscheinungen im Vordergrund.

Bei weiblichen Tieren kommt es zur Resorptionssterilität, bei der sich Veränderungen am Uterus zeigen, die auffallend den Veränderungen dieses Organs bei alternden Tieren gleichen. Bei meist größenmäßig unverändertem Uterus kommt es zu Pigmenteinwanderungen an den Kernpolen der Muskelzellen. Diese degenerativen Schädigungen können durch Zufuhr von 2 mg Tocopherolacetat pro die in 80 Tagen geheilt werden (1).

Männliche Tiere zeigen dagegen frühzeitig schwere, irreparable Hodendegeneration (1).

Für die Ratte wurde ein Vitamin E-Bedarf von 50—75 γ dl-α-Tocopherol pro die ermittelt, Mason (14).

Vitamin E-Mangel wirkt sich auch auf das Wachstum ungünstig aus. Emmerson und Evans (15) beschrieben Fütterungsversuche

an Ratten unter Verwendung dreier verschiedener vitamin-E-freier Futtergemische. Alle drei Versuchstiergruppen stellten nach 120 Tagen ihr Wachstum ein. Wurde nun Weizenkeimöl verabreicht, so setzte das Wachstum wieder ein. Diese, durch einen Vitamin E-Mangel verursachte Wachstumshemmung ist dadurch gekennzeichnet, daß sie erst nach dem vierten Lebensmonat der Ratte auftritt.

King (16) versuchte die Beziehungen von Vitamin E zur Skelett- und Herzmuskulatur der Maus aufzuklären. Bei diesen Versuchen wurde Vitamin E-Mangel durch hohe Mineralgaben ausgelöst. Der Verfasser beschreibt unter anderem hierbei funktionelles Versagen der Herzmuskulatur und die Entstehung eines säurefesten Pigments, das in den Muskelzellen und vielleicht auch in anderen Organen auftritt. Dieses Pigment ist nach Ansicht des Verfassers ein abnormes intermediäres Stoffwechselprodukt und charakteristisch für einen Vitamin E-Mangel.

Ingelmann-Sundberg (17) beschreibt Versuche an Meerschweinchen mit Vitamin E-Mangelernährung. Mit weniger als 0,4 mg Tocopherol täglich abortierten die Meerschweinchen am 20. bis 30. Tag der Schwangerschaft infolge Nekrose und vorzeitiger Ablösung der Placenta. Mit steigenden Vitamin E-Zulagen erfolgte der Abort in zunehmend späterem Schwangerschaftsstadium. Bei 1,6 mg Vitamin E täglich erfolgte normale Geburt. Ursachen der Placentaablösung waren Veränderungen in den mütterlichen Gefäßen, Infarctbildung der Placenta und Blutungen, wobei oft Ablagerungen von doppelt lichtbrechenden, gelben Kristallen in den glatten Muskelzellen beobachtet werden konnten.

Von praktischem Interesse erscheint die Arbeit von Culik, Bacigalupo, Thorp, Luecke und Nelson (18) über den Vitamin E-Mangelzustand beim Schaflamm. Bei Vitamin-E-frei ernährten Lämmern entwickelte sich Muskeldystrophie. Die weiteren Symptome des Vitamin E-Mangels bestanden in Bewegungsstörungen wie Steifheit der Gliedmaßen, Paralyse, Pneumonieanfälligkeit und plötzlichem Verenden. Die Skelett- und Herzmuskulatur wies die sogenannte „Zenker-Degeneration" auf. Die Schäden im Herzen betrafen immer den rechten Ventrikel. Durch Behandlung mit dl-α-Tocopherol wurden die Symptome in 3—5 Tagen erheblich gebessert.

Auch der akute Herztod des Schweines, dessen Aetiologie noch nicht restlos und befriedigend geklärt ist, wird von manchen Forschern mit Vitamin- und insbesondere Vitamin E-Mangel in Zusammenhang gebracht (18).

Jungenten können besonders im Winter und Frühjahr an enzootischer Muskeldystrophie erkranken, als deren Ursache Vitamin E-Mangel erkannt wurde. Zu diesen Avitaminosen kommt es vor allem nach reichlicher Fütterung von Fischölen, Leinölen oder anderen Futterkomponenten, die reichlich ungesättigte Fettsäuren enthalten (20).

2.) Vitamin E und seine Beziehung zum Vitamin A

Ueber die Auswirkung eines Tocopherolmangels auf die Vitamin A-Reserven der Ratte berichtet Moore (21). Obwohl entsprechende Vitamin A-Mengen zugeführt wurden, kam es bei Albinoratten, die eine Vitamin E-Mangeldiät erhielten, zu einer Verarmung der Vitamin A-Reserven in der Leber. Dieser Abbau der Vitamin A-Vorräte konnte durch ausreichende Gaben von Weizenkeimöl beziehungsweise Tocopherol verhindert werden. Diese Vitamin E-Wirkung scheint spezifisch zu sein.

Bacharach (22) konnte durch vitamin-E-freie Fütterung keine Minderung der Vitamin A-Speicherung feststellen, wohl aber durch reichliche Vitamin E-Zufuhr einen verminderten Verbrauch an Vitamin A nachweisen.

Euler (23) und Mitarbeiter beobachteten in Fütterungsversuchen an juvenilen weiblichen Ratten, daß vitamin-E-frei ernährte Tiere viel schneller Vitamin A-Mangelerscheinungen zeigen, als diejenigen, deren Vitamin E-Bedarf gedeckt ist.

3.) Der Einfluß des Vitamins E auf den Stoffwechsel

Die biochemische Funktion des Vitamins E ist noch weitgehend unbekannt. Ames und Harris (25) halten es für möglich, daß dieses Vitamin primär über Enzymsysteme und sekundär als unspezifisches Antioxydans wirkt.

In diesem Zusammenhang erscheinen die Versuche von Vieuwerkirk (31) interessant, mit denen der Einfluß von Vitamin E auf die Leberesterase und Cholinesterase untersucht wurde. Beide Enzyme wurden durch dl-α-Tocopherylphosphat in ihrer Aktivität gehemmt. Durch nachfolgende Dialyse wurde keine Reaktivierung erzielt. Allerdings konnte letztere durch Behandlung der Fermentpräparationen mit dem Emulgator Tween 80 erreicht werden.

Heß und Violier (32) untersuchten die Aktivität der Lipase und Cholesterinesterase bei fettfreier Diät und E-Avitaminose an weib-

lichen Ratten. Bei den Versuchstieren waren die Werte für beide Enzyme gegenüber gleichaltrigen Kontrolltieren stark herabgesetzt.

Erwiesen ist ein Einfluß des Vitamins E auf die Kreatinausscheidung. Nach Hottinger (27) wird die physiologische Kreatinausscheidung bei Kindern durch Vitamin E-Gaben vermindert. In gleicher Weise wird auch eine durch Glykokollzufuhr vermehrte Kreatinurie beeinflußt. Der Verfasser schließt daraus, daß der Grundumsatz, beziehungsweise die spezifisch dynamische Wirkung des Glykokolls, in der Mehrzahl der beobachteten Fälle durch Vitamin E gehemmt wird.

Allgemeinere Wirkungen des Vitamins E wurden von Frey (30) beschrieben. So konnte der Autor mit oralen Dosen von 2—5 mg Tocopherol pro kg Körpergewicht und Tag eine appetitsteigernde Wirkung und damit einen Wachstumseffekt bei Säuglingen, Kindern und Erwachsenen erzielen. Der Verfasser glaubt diesen Effekt über eine direkte Wirkung des Vitamins E auf das hypophysärdiencephale System erklären zu können, zumal Vitamin E in der Hypophyse vermehrt vorkommt. Bei Krankheiten mit Ausfall von Hormonen der Hypophyse konnte durch Vitamin E-Gabe Besserung erzielt werden.

Der gleiche Verfasser sah durch Vitamin E die Muskelermüdung am isolierten Froschschenkel gebessert und die Schädigungen durch Gifte (Cyankali, Monojodessigsäure, osmotische Einflüsse) vermindert. Frey spricht dem Vitamin E im Zellstoffwechsel die Funktion eines Co-Fermentes zu.

Die Annahme einer Beeinflussung des diencephalohypophysären Systems durch Vitamin E wird von Heinsen (29) gestützt, der die Ansicht vertritt, daß Vitamin E über die Hypophyse regulierend auf den Wasserhaushalt wirkt. Gleichzeitig soll das Leberglykogen mobilisiert und der Blutzucker gesenkt werden.

Sòs und Mitarbeiter (33) und Mc. Lean (34) stellten in Fütterungsversuchen an Ratten eine Leberschutzwirkung des Vitamins E fest, das heißt, es gelang ihnen, die im Vitamin E-Mangel auftretenden nekrotischen Leberzellveränderungen durch Gaben von dl-α-Tocopherol zu verhüten.

Eine mögliche Beziehung des Vitamins E zu den Vorgängen ungehemmter Zellteilung diskutiert Adamstone (35). Nach Verfütterung eines am Vitamin E durch Behandlung mit $FeCl_3$ verarmten Futters wurde bei Hühnern die Entwicklung charakteristischer pathologischer Schädigungen beobachtet. In den Geweben fanden sich Degenerationsherde neben Zentren eines vermehrten Zellwachstums, das dem maligner Tumoren glich.

Young und Dinning (45) stellten in Versuchen fest, daß Vitamin E-Mangel bei Ratten eine vermehrte Allantoinausscheidung zur Folge hat. Da das Allantoin ein Abbauprodukt der Nukleinsäuren darstellt, scheint somit bereits ein erster Hinweis gegeben zu sein, daß das Vitamin E auch für den Nukleinsäurestoffwechsel von Bedeutung ist.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die bisher vorliegenden Kenntnisse über Funktionen des Vitamins E durchaus einen Einfluß desselben auf den Nukleinsäurestoffwechsel erwarten lassen. Die Berechtigung zu dieser Annahme läßt sich weniger durch die im fortgeschrittenen Vitamin E-Mangelzustand auftretenden Symptome, als vielmehr durch die Vitamin-E-Wirkungen auf Wachstum, Vitamin A-Umsatz und die Allantoin-Ausscheidung ableiten. Wachstumsvorgänge mit den Erscheinungen des Zellwachstums und der Zellvermehrung sind aufs engste mit der Intensität des Nukleinsäure-Stoffwechsels verknüpft. Damit erscheint es denkbar, daß den Wachstumsveränderungen solche des Nukleinsäurestoffwechsels vorauslaufen. Dieser Schluß ist jedoch nur unter Berücksichtigung der Vitamin E-Wirkungen auf Vitamin A-Umsatz und Allantoin-Ausscheidung aufrecht zu erhalten, da das Kriterium Wachstum ganz allgemein durch vielerlei Faktoren unspezifisch beeinflußbar ist. Die durch Vitamin E ausgeübte Sparwirkung auf Vitamin A kann nämlich als Synergismus beider Wirkstoffe gedeutet werden. Damit dürften die für Vitamin A nachgewiesenen Effekte auf den Nukleinsäurestoffwechsel (8) u. U. auch für Vitamin E denkbar sein. Diese Hypothese wird durch die Verminderung der Allantoin-Ausscheidung durch Vitamin E gestützt, da diese einen unmittelbaren Indikator für den Umsatz des Nukleinsäurestoffwechsels darstellt.

Da somit eine Untersuchung des Einflusses von Vitamin E auf den Nukleinsäurestoffwechsel Erfolg versprach, erhielt ich von Herrn Prof. Dr. Dr. Brüggemann das vorliegende Thema zur experimentellen Bearbeitung.

C. Eigene Untersuchungen

Chemie der Nukleinsäuren

Diesem Kapitel sei ein kurzer Ueberblick der Chemie der Nukleinsäuren vorangestellt.

Der Name „Nukleinsäuren" stammt von Altmann (36) aus dem Jahre 1889, der damit den eiweißfreien Anteil der Nukleoproteide bezeichnete. Heute versteht man unter Nukleinsäuren eine Gruppe von Verbindungen, die durch Verkettung zahlreicher Grundbausteine, der sogenannten Mononukleotide, gebildet werden. Ein Mononukleotid setzt sich aus einem Purin-, beziehungsweise Pyrimidin-, einem Kohlehydrat- und Phosphorsäureanteil zusammen. Je vier Mononukleotide können sich zu Tetranukleotiden vereinigen. Man nimmt an, daß durch eine große Zahl kettenförmig aneinandergereihter Tetranukleotide die hochmolekularen Nukleinsäuren aufgebaut werden. Die Verknüpfung der hochpolymeren Nukleinsäuren erfolgt durch Phosphor-Sauerstoff-Brücken, die sich zwischen C_3 und C_1 zweier Kohlenhydratanteile ausbilden.

Das Kohlehydrat wird durch eine Pentose dargestellt. Je nachdem, ob diese aus einer Ribose oder Desoxyribose besteht, unterscheidet man Ribonukleinsäuren (RNSn) und Desoxyribonukleinsäuren (DNSn). Der Nukleinsäure-Nachweis beruht darauf, mittels chemischer Reagenzien die Nukleinsäuren zu Mononukleotiden zu hydrolisieren, weiterhin die Aminobase und Phosphorsäure von diesem Molekül abzutrennen und das entstehende freie Kohlehydrat durch eine Farbreaktion optisch nachzuweisen.

1. Prinzip des Versuches

In den eigenen Untersuchungen sollte ermittelt werden, ob das Vitamin E einen unmittelbaren Einfluß auf den Nukleinsäurestoffwechsel ausübt. Hierfür wurde der Organismus von Ratten mittels einer intravenösen Infusion auf die Dauer von 2 Stunden mit einer Lösung eines wasserlöslichen Vitamin E-Präparates überflutet. Unmittelbar nach der Applikation wurden das Versuchstier, sowie ein entsprechendes Kontrolltier getötet und ihre Organe der chemischen Aufarbeitung und dem Nukleinsäure-Nachweis unterworfen. Die erhaltenen Nukleinsäurewerte in mg pro g Trockengewicht für die Organe der Versuchstiere wurden mit denen der Kontrolltiere verglichen und für die auftretenden Differenzen die statistische Sicherheit ermittelt.

2. Versuchsanstellung

Die Versuchsgruppe umfaßte 28 junge männliche Ratten von 60 bis 100 g Körpergewicht. Bei jedem Einzelversuch wurden jeweils 2 Tiere von gleichem Gewicht verwendet, wobei eines als Versuchs-, das andere als Kontrolltier diente. Beide erhielten zur Betäubung eine einmalige intraperitonale Injektion von 1,2 ccm Urethan in 8%iger Lösung. Eine operationsreife Narkose war im allgemeinen in 10 Minuten eingetreten. Nun wurde das Versuchstier in Rückenlage auf einem geeigneten Operationstisch an den Extremitäten und am Kopf fixiert und durch einen Hautschnitt die Vena jugularis am Hals freigelegt. Die intravenöse Infusion von Vitamin E erfolgte mit einem Infusionsgerät über die Dauer von 120 Minuten. Dabei wurden 0,02 g dl-α-Tocopherol in 4 ccm einer 1%igen Lösung des Präparates „Tween 60" in physiologischer Kochsalzlösung infundiert.

Sofort nach Beendigung der Infusion wurde das Versuchstier durch Decapitation getötet und entblutet und seine Organe der Aufarbeitung zugeführt. Mit dem Kontrolltier wurde anschließend gleichsinnig verfahren, nur wurde hier das Lösungsmittel ohne Vitamin E infundiert.

3. Aufarbeitung

Nach dem Entbluten wurden die Organe der beiden Ratten in gleicher Weise behandelt und aufgearbeitet.

Folgende 12 Organe oder Teile derselben wurden zur Bestimmung ihrer Nukleinsäuregehalte verwendet: Haut, Hoden, Darm, Nieren, Nebennieren, Milz, Speiseröhre, Gehirn, Leber, Herz, Lunge und Muskel.

Die Organe wurden mit Ausnahme der Nebennieren und der Speiseröhre halbiert, um den einen Teil der chemischen Aufarbeitung auf die Gehalte an DNS und RNS zu unterwerfen, den anderen Teil einer Trockensubstanzbestimmung zu unterziehen.

Folgende Präparationen wurden für die einzelnen Organe vorgenommen:

Zur Untersuchung der Haut diente ein etwa $3 cm^2$ großes Stück der regio mesogastrica, welches nach dem Abrasieren der Haare herausgeschnitten wurde. Anhaftende Fettbestandteile wurden entfernt und das Hautstück in etwa zwei gleich große Stücke geteilt.

Von den Hoden wurden nach Entfernung von Nebenhoden und Bindegewebsteilen der eine zur Aufarbeitung, der andere zur Trokkensubstanzbestimmung verwendet.

Ein etwa 12 cm langes Stück Dünndarm wurde nach mehrmaliger

Durchspülung mit Ringerlösung mittels Schere zerkleinert und in zwei Hälften geteilt.

Die Milz wurde nach Entfernung von Bindegewebsteilen halbiert.

Die Nebennieren wurden sorgfältig von anhaftenden Fett- und Bindegewebsteilen befreit. Wegen der geringen Substanzmasse war es nicht möglich, eine Nebenniere für die Trockensubstanzbestimmung zu verwenden. Bei diesem Organ wurde daher der DNS- und RNS-Gehalt auf g Frischgewicht bezogen.

Die Nieren wurden aus ihrer Kapsel herausgeschält und eine zur Nukleinsäurebestimmung, die andere zur Trockensubstanzbestimmung herangezogen.

Die Speiseröhre wurde mit Ringerlösung abgespült, mittels Schere zerkleinert und in zwei Teile zerlegt.

Die Leber wurde von anhaftendem Fett- und Bindegewebe befreit, mit einem Skalpell fein zerkleinert und der so gewonnene Brei halbiert.

Das Herz wurde durch einen Längsschnitt, der durch beide Kammern verlief, geteilt.

Die Lunge wurde von ihren Hauptbronchien befreit, homogenisiert und halbiert.

Das Gehirn wurde einschließlich Kleinhirn aus der Schädelkapsel herausgelöst, von abzweigenden Nervensträngen befreit und durch Längsschnitt in der Gehirnfurche geteilt.

Zur Gewinnung der Muskelprobe wurde die Haut im vorderen Bereich des Oberschenkels entfernt und ein würfliges Stück aus der Quadricepsmuskulatur herausgeschnitten und halbiert.

Auf numerierten und vorher abgewogenen Objektträgern wurden die halbierten Organe gewogen. Anschließend wurden die Hälften der Organe, die zur Trockensubstanzbestimmung dienen sollten, für 12 Stunden bei 60^0 im Trockenschrank gehalten und danach nochmals abgewogen. Daraus ließ sich der prozentuale Wassergehalt ermitteln, der zur Errechnung der Trockensubstanzgewichte zugrunde gelegt wurde.

Diejenigen Organhälften, deren Nukleinsäuregehalte bestimmt werden sollten, wurden in eine Reibschale verbracht und mit einer Spatelspitze gereinigten Seesands verrieben. Die Aufarbeitung der einzelnen Organhälften bis zum Nukleinsäureextrakt erfolgte im Prinzip nach der Methode von Kosterlitz (38).

Die verriebenen Organteile wurden mit 5%iger Trichloressigsäurelösung zwecks Ausfällung der Nukleoproteine behandelt. Die Aufschlämmung wurde quantitativ in ein Zentrifugenglas verbracht und 5 Minuten lang zentrifugiert. Daraufhin wurde die überstehende Flüssigkeit abdekantiert, das Sediment nochmals mit 5%iger Trichloressigsäure nachgewaschen und erneut abzentrifu-

giert. Um die Fette und Lipoide zu entfernen, wurde der Niederschlag mit 30 ml eines Gemisches aus Aethanol und Aether (Verhältnis 3:1) heiß gewaschen. Nach Entfernung der Lipoidfraktion durch Zentrifugieren wurden aus dem Rückstand die Nukleinsäuren durch Hydrolyse mit 5 ml einer 6%igen Perchlorsäurelösung (20 Minuten bei 90°) herausgelöst und quantitativ in einen kleinen Meßzylinder abfiltriert. Mit 3 ml der 6%igen Perchlorsäure wurde der Rückstand nachgewaschen. Die Mengen der vereinigten Filtrate in ml pro Organ wurden für die spätere Berechnung festgehalten.

4. Chemische Bestimmungsverfahren der Nukleinsäuren

Prinzip:

DNS und RNS wurden im gleichen Perchlorsäureextrakt nebeneinander nach ihrer Spaltung in freie Base und Kohlehydrat durch stark saure Hydrolyse mit den Pentose-Farbreagentien Diphenylamin beziehungsweise Orzin versetzt. Ueber eine colorimetrische Messung der hierbei entstehenden Farbkomplexe konnten an Hand einer Eichkurve DNS und RNS quantitativ bestimmt werden.

Ausführung:

Die Bestimmungen von DNS und RNS erfolgten nach den Methoden von Bergold und Pister (40) beziehungsweise Mejbaum (39) in den bei der Aufarbeitung gewonnenen Perchlorsäureextrakten.

a) **Reagentien.**

„Dische" — Reagenz zur DNS-Bestimmung:
Diphenylamin p. a.
Schwefelsäure p. a., spez. Gew. 1,835
Essigsäure, konz. bidest.

Herstellung der Reagenzlösung:
1,0 g Diphenylamin werden in 100 ml Essigsäure gelöst und der Lösung 1,5 ml Schwefelsäure zugefügt.

„Blank" — Reagenz zur Blindwertherstellung:
Schwefelsäure p. a., spez. Gew. 1,835
Essigsäure, konz. bidest.

Herstellung der Reagenzlösung:
100 ml Essigsäure werden mit 1,5 ml Schwefelsäure versetzt.

„Orzinreagenz“ zur RNS-Bestimmung:
Orzin, p. a.
Eisentrichlorid, p. a.
Salzsäure, p. a., spez. Gew. 1,19

Herstellung der Reagenzlösung:
0,5 g Orzin werden mit 0,1 g Eisentrichlorid in 100 ml konz. Salzsäure gelöst.

b) **Aufstellung der DNS- und RNS-Eichkurven**

Für die Aufstellung der Eichkurven wurden reine DNS (Fa. Schuchhardt, München) und reine RNS (Fa. Zellstoffwerke, Waldhof-Mannheim) verwendet. DNS wurde in einer 1/60 molaren wässrigen Natriumbicarbonatlösung gelöst und in entsprechenden Verdünnungsstufen von 100 bis 500 µg/ml nach der im folgenden Abschnitt beschriebenen Methode bestimmt. Die fünfmalige Wiederholung der 5 DNS-Bestimmungen führte zu der in dem Kurvenbild I wiedergegebenen Eichkurve.

Zur Aufstellung der RNS-Eichkurve wurde reine RNS in 6%iger wässriger Perchlorsäure gelöst und zwar in Mengen von 20, 40, 60, 80 und 100 µg pro ml.

Eine fünfmalige Wiederholung der Bestimmungen nach der im folgenden Abschnitt beschriebenen Methode lieferte die im Kurvenbild II aufgestellte Eichkurve.

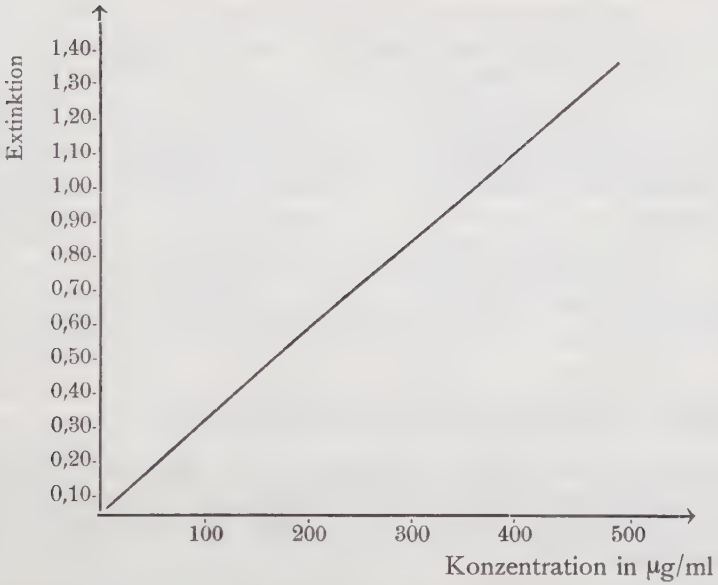
c) **Chemische Reaktion**

DNS-Bestimmung:

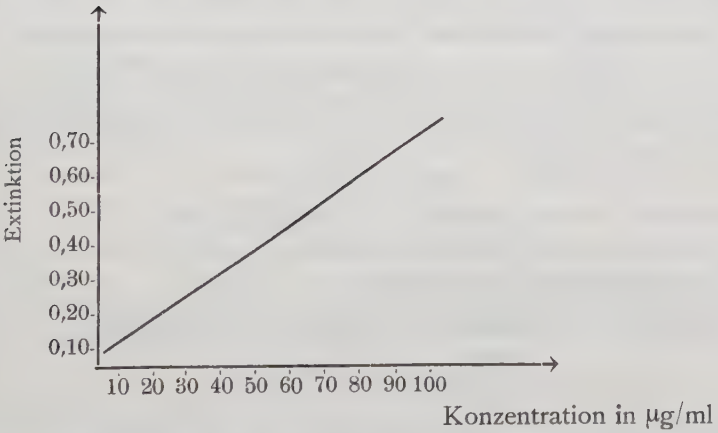
Von dem abgemessenen Perchlorsäureextrakt wurden je 0,5 ml in 4 Reagenzgläser pipettiert. In das 1. Reagenzglas (Blindwert) gab man 1 ml „Blank“-Reagenz, in die übrigen 3 Reagenzgläser je 1 ml „Dische“-Reagenz.

Die Proben wurden für 15 Minuten in ein kochendes Wasserbad gestellt und anschließend 10 Minuten unter fließendem Wasser gekühlt. In das 1. Reagenzglas wurde nun 1 ml „Dische“-Reagenz, in die anderen drei je 1 ml „Blank“-Reagenz hineinpipettiert. Nach gutem Durchmischen wurden die Extinktionen unmittelbar anschließend am Eppendorf-Photometer bei Filter Hg 578, Photozelle 90 b gegen den Blindwert unter Verwendung von Glasküvetten mit 1 cm Schichtdicke gemessen. Von den drei so erhaltenen Extinktionswerten bildete man den arithmetischen Mittelwert, der über die entsprechende Eichkurve den DNS-Gehalt pro Einwaage Frischgewicht erkennen ließ.

Kurvenbild I: **DNS-Eichkurve**



Kurvenbild II: **RNS-Eichkurve**



RNS-Bestimmung:

Wegen der Empfindlichkeit der Methode war es erforderlich, die Perchlorsäure-Extrakte der einzelnen Organe vorher mit 6%iger Perchlorsäure auf $^1/_5$ beziehungsweise $^1/_{10}$ zu verdünnen. 1 ml des verdünnten Perchlorsäure-Extraktes wurde mit 2 ml „Orzin-Reagenz" versetzt und 20 Minuten im Wasserbad erhitzt. Pro Organextrakt wurden drei Parallelproben der quantitativen Bestimmung unterworfen. Nach Abkühlung auf Zimmertemperatur wurden die Extinktionen der Lösungen am Stufenphotometer (Zeiss, Jena) bei Filter S 61 in Glasküvetten mit 1 cm Schichtdicke gegen Wasser bestimmt. Von den drei erhaltenen Werten wurde das arithmetische Mittel gebildet, um damit über die entsprechende Eichkurve die RNS-Menge in mg pro Einwaage Frischgewicht zu ermitteln.

5. **Beispiel zur Berechnung der Nukleinsäurewerte**

Der gesamte Rechnungsgang, mit dessen Hilfe die in den folgenden Tabellen angegebenen DNS- und RNS-Werte pro g Trockengewicht ermittelt wurden, sei an folgendem Beispiel für eine RNS-Bestimmung erläutert.

Die Einwaage zur RNS-Bestimmung ergab 1,12 g Frischgewicht.

Nach entsprechender Aufarbeitung lagen die interessierenden Nukleinsäuren in 5 ml Perchlorsäure-Extrakt vor.

Zur RNS-Bestimmung wurden die 5 ml Organextrakt mit 6%iger Perchlorsäure auf das 4-fache verdünnt. Nach Durchführung der chemischen Reaktion wurden Extinktionswerte von 0,31, 0,33, 0,32 und damit ein arithmetischer Mittelwert von 0,32 festgestellt.

Für die Extinktion von 0,32 fand sich in der RNS-Eichkurve ein Wert von 40 µ g pro ml Extrakt. Da diese 40 µ g für 1 ml Extrakt ermittelt und letzterer auf das 4-fache verdünnt wurde, mußte der Wert mit dem Faktor

$$5 \times 4 = 20$$

multipliziert werden, womit sich dann insgesamt

$$20 \times 40 = 800\ \mu\text{g}$$

für 1,12 g Frischgewicht ergaben.

Der Wert für 1 g Frischgewicht beläuft sich dann auf

$$\frac{800}{1{,}12} = 715\ \mu\text{g}$$

Für eine parallel angesetzte Organprobe von 1,34 g Frischgewicht konnte nach Trocknung ein Trockengewicht von 0,058 g festgestellt werden, ein Wert, der 4,32% des Frischgewichtes ausmacht.

Der RNS-Wert in mg pro g Trockensubstanz ergab sich somit nach der Formel

$$\frac{715 \times 100}{4{,}32 \times 1000} = 16{,}53 \text{ mg pro g Trockensubstanz.}$$

Die so erhaltenen Werte für DNS und RNS in mg pro g Trockengewicht der Versuchstiere wurden mit den entsprechenden Werten der Kontrolltiere paarweise verglichen und die Differenzen errechnet.

Spezifität und Genauigkeit der Methode

Die hier zur Bestimmung von DNS und RNS verwendeten Reagenzien Diphenylamin und Orzin sprechen, wie bereits erwähnt, auf Desoxyribose und Ribose an. Wenn auf Grund dieser Reaktionen die entsprechenden Nukleinsäuren quantitativ bestimmt werden sollen, so ist Voraussetzung, daß in dem Reaktionsansatz tatsächlich nur die lediglich aus den Nukleinsäuren stammenden Pentosen enthalten sind. Alle ursprünglich in den Geweben in freier oder phosphorylierter Form vorhandenen Pentosen müssen demzufolge vor der hydrolytischen Spaltung der Nukleinsäuren abgetrennt werden. Durch die oben beschriebene Behandlung der Organe mit Trichloressigsäure wird diese Forderung ausreichend erfüllt. Entsprechende Vorversuche zeigten, daß vor Beginn der Aufarbeitung zugesetzte freie Desoxyribose und Ribose durch die Trichloressigsäure quantitativ entfernt werden.

Andererseits befinden sich in dem durch Trichloressigsäure gefälltem nukleoproteinhaltigem Eiweißniederschlag lediglich die in den Nukleinsäuren enthaltenen Pentosen, so daß eine Verfälschung der Versuchsergebnisse nicht zu erwarten ist. Die Voraussetzung für einwandfrei reproduzierbare Desoxyribonukleinsäure- und Ribonukleinsäurewerte ist jedoch, daß die Pentosen Desoxyribose und Ribose spezifisch auf ihre Bestimmungsreagenzien ansprechen. In entsprechenden Vergleichsuntersuchungen (8) konnte bewiesen werden, daß dies im allgemeinen der Fall ist.

Durch die Aufarbeitung mehrerer Parallel-Proben konnte die Genauigkeit des Verfahrens ermittelt werden. Der Verfahrensfehler für die o. a. Einzelbestimmungen von Desoxyribonukleinsäure liegt bei $\pm$ 4%, für RNS bei $\pm$ 8%.

Da bei Tierversuchen immer individuelle Schwankungen zu berücksichtigen und Vergleichsproben daher stets mit Fehlern behaftet sind, wurden die Paare in einer nach dem allgemein üblichen Verfahren durchgeführten Fehlerberechnung nochmals einander gegenübergestellt. Dabei wurde zunächst die Streuung der

Differenz festgehalten, was mittels Differenzmethode nach folgender Formel geschah:

$$sd = \sqrt{\frac{\Sigma d^2 - \bar{d} \cdot \Sigma d}{n\,(n-1)}}$$

sd = Streuung der Differenzen

d = einzelne Differenzen

Σd^2 = Summe sämtlicher, ins Quadrat erhobener Differenzen

$\bar{d}$ = Mittelwert der einzelnen Differenzen

n = Anzahl der Differenzen

Σd = Summe der Differenzen

Nach dieser Berechnung war es möglich, die Grenzwahrscheinlichkeit, die angibt, welcher Prozentsatz von den ermittelten Werten im Zufallsbereich liegt, und als p-Wert bezeichnet wird, zu ermitteln.

Es gilt dabei folgende Einteilung:

p = kleiner als 0,1%	Differenz sehr gut gesichert
p = 0,1 — 1,0%	Differenz gut gesichert
p = 1,0 — 5,0%	Differenz gesichert

Dieser p-Wert wird in dem sogenannten t-Test den Ergebnissen gegenübergestellt. Der Wert t ist dabei der Faktor, welcher angibt, um wieviel größer die Differenz zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe für eine bestimmte Grenzwahrscheinlichkeit, also einen p-Wert, als die errechnete Streuung der Differenzen (sd) sein müßte. Der t-Wert errechnet sich nach der Formel

$$t = \frac{\bar{d}}{sd}$$

und wird für die entsprechenden Freiheitsgrade (= n — 1) mit dem in der Tabelle befindlichen t-Wert verglichen und dabei ermittelt, welchem p-Wert er entspricht.

Der Gang dieser Fehlerrechnung sei an folgendem Beispiel demonstriert:

DNS-Werte in mg/ g Trockensubstanz (Hoden)

Kontrolltiere	Versuchstiere	Differenz	Quadrat d. Diff.
9,4	11,4	+ 2,0	4,0
9,7	7,3	— 2,4	5,76
8,9	12,0	+ 3,1	9,6
16,2	21,2	+ 5,0	25,0
13,5	19,8	+ 6,3	39,69
11,5	14,0	+ 2,5	6,25
11,7	13,3	+ 1,6	2,56
11,0	20,2	+ 9,2	84,6
13,0	15,4	+ 2,4	5,76
13,2	13,8	+ 0,6	0,36
16,2	9,5	— 6,7	44,9
7,3	11,7	+ 4,4	19,4
8,7	14,0	+ 5,3	28,1
			275,99 — 276

Summe der positiven Diff.: + 42,4
„ „ negativen „ — 9,1
33,3 = Σ d — Σ d²

$$\bar{d} = \frac{\Sigma d}{n} = \frac{33{,}3}{13} = 2{,}56$$

$$sd = \sqrt{\frac{\Sigma d^2 - \bar{d}\ \Sigma d}{n\ (n-1)}} = \sqrt{\frac{276 - 2{,}56 \cdot 33{,}3}{13 \cdot 12}} = \sqrt{1{,}22} = 1{,}105$$

$$t = \frac{\bar{d}}{sd} = \frac{2{,}56}{1{,}105} = 2{,}32$$

Dieser Wert t = 2,32 zeigt in der Tabelle für 13 Freiheitsgrade (= n — 1) einen p-Wert von 2,0% an. Somit ist die Zunahme für die DNS-Werte der Versuchstiere gegenüber den Kontrolltieren mit p = 2,0% als gesichert anzusehen.

D Ergebnisse

Die Ergebnisse wurden für die einzelnen Organe getrennt in entsprechenden Tabellen zusammengefaßt. Die in mg pro g Trockengewebe berechneten Organwerte für DNS und RNS der Versuchstiere wurden denen der Kontrolltiere gegenübergestellt und ihre Differenz (ebenfalls in mg pro g Trockengewebe) angegeben.

Aus den Durchschnittswerten der jeweiligen Organreihe wurde im positiven Fall die mittlere Zunahme an DNS und RNS der Versuchsgruppe gegenüber der Kontrollgruppe in mg und Prozent ausgedrückt.

Die angegebenen p-Werte vermittelten ein Urteil über die statistische Sicherheit der Zunahmen.

In den Tabellen wurden der Uebersicht wegen nachstehende Abkürzungen verwendet:

V = Versuchstier, K = Kontrolltier, D = Differenzen,
M = Mittelwert, St = Streuung der Differenz

Tabelle I

Hoden

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
9,5	11,4	+ 1,9	20,0	30,0	+ 10,0
9,8	7,5	— 2,3	28,0	22,2	— 5,8
8,9	12,0	+ 3,1	19,8	22,8	+ 3,0
16,2	21,2	+ 5,0	22,4	30,4	+ 8,0
13,5	19,8	+ 6,3	24,6	25,6	+ 1,0
11,5	14,0	+ 2,5	27,5	28,4	+ 0,9
11,7	13,3	+ 1,6	31,1	26,0	— 5,1
11,8	—	—	25,8	—	—
11,0	20,2	+ 9,2	28,8	28,1	— 0,7
13,0	15,4	+ 2,4	27,4	23,9	— 3,5
13,2	13,8	+ 0,6	23,8	26,7	+ 2,9
16,2	9,5	— 6,7	21,9	23,6	+ 1,7
7,3	11,7	+ 4,4	15,6	21,1	+ 5,5
8,7	14,0	+ 5,3	22,5	25,8	+ 3,3
M = 11,6	M = 14,2	D = 2,56	M = 24,2	M = 25,7	D = 1,6
	St = ± 1,07			St ± 1,3	

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche

Zunahme an DNS von 2,56 = 22%

Die Zunahme ist mit **p = 3,4** statistisch gesichert

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche

Zunahme an RNS von 1,63 mg = 6,7%

Die Zunahme ist mit **p = 2,0** statistisch gesichert

Zu Tabelle I

Die Nukleinsäurewerte in den Hoden der Versuchstiere waren fast durchwegs höher, als die der Kontrolltiere.

Die DNSn der Hoden ergaben bei nur einer Abnahme, eine durchschnittliche Zunahme von 2,54 mg. bei einer Streuung von ± 1,07. Die Zunahme war durch den p-Wert von 3,4 statistisch gesichert.

Bei der RNS ergaben sich neben 9 Zunahmen 4 Abnahmen, die zum Teil beträchtlich sind und sich ungünstig auf das Ergebnis auswirken. Trotzdem ließ sich noch eine durchschnittliche Steigerung der RNSn Werte der Versuchstiere gegenüber den Kontrollen von 1,63 mg ermitteln. Bei einer Streuung von ± 1,3 war dieser Wert mit p = 2,0 statistisch gesichert.

Tabelle II

Darm

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
6,5	10,3	+ 3,8	19,6	22,2	+ 2,6
12,2	7,8	— 4,4	25,6	25,7	+ 0,1
13,8	7,5	— 6,3	21,4	23,4	+ 2
13,1	9,7	— 3,4	26,2	17,4	— 8,8
11,3	12,5	+ 1,2	32,9	33,3	+ 0,4
8,2	10,1	+ 1,9	24,2	28,6	+ 4,4
12,4	11,4	— 1,0	25,6	30,2	— 4,6
9,4	7,9	— 1,5	23,7	28,2	+ 4,5
11,2	9,3	— 1,9	30,2	26,6	— 3,6
11,4	15,8	+ 4,4	25,6	21,7	— 3,9
7,0	9,4	+ 2,4	31,2	33,0	+ 1,8
7,0	8,5	+ 1,5	23,5	26,8	+ 3,3
11,9	11,7	— 0,2	26,2	27,7	+ 1,5
11,4	8,1	— 3,3	23,0	22,0	— 1,0
M = 10,5	M = 9,9	D = — 0,63	M = 25,6	M = 26,2	D = 0,56
	St = 9,99				St = ± 1,18

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen keine Zunahme an DNS;

die Differenz von 0,63 mg ist negativ

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme an RNS von + 0,56 mg = 2%;

Die Zunahme ist aber statistisch nicht gesichert

Zu Tabelle II

Die Nukleinsäurewerte des Darmes ließen zwischen Versuchstieren und Kontrollen keine echte Differenz erkennen.

Bei der DNS standen 6 Zunahmen 8 Abnahmen gegenüber, was zu einer negativen Differenz von 0,63 führt.

Die RNSn Werte waren durchschnittlich höher als die der Kontrollen, aber die Differenz von 0,56 war durch den t-Test nicht gesichert.

Tabelle III

Niere

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
5,7	6,6	+ 0,9	14, 0	13,4	— 0,5
8,7	7,8	— 0,9	20,1	18,5	— 1,6
6,7	8,7	+ 2,0	14,1	17,8	+ 3,7
9,2	9,2	0	16.9	21,4	+ 4,5
7,3	6,9	— 0,5	20,0	16,2	— 3,8
5,2	6,0	+ 0,8	14,6	14,9	+ 0,3
5,6	7,9	+ 2,3	12,1	18,2	+ 6,1
7,9	5,0	— 2,9	16,4	16,8	+ 0,4
7,2	8,3	+ 1,1	17,4	14,0	— 3,4
8,4	6,6	— 1,8	20,7	14,4	— 3,3
7,7	8,6	+ 0,9	18,4	19,3	+ 0,9
7,7	6,8	— 0,9	15,1	16,7	+ 1,6
5,0	7,8	+ 2,8	10,0	14,6	+ 4,6
7,1	9,7	+ 2,6	20,3	20,6	+ 0,3
M = 7,1	M = 7,5	D = 0,44	M = 16,4	M = 17,1	D = 0,70
		St = ± 0,45			St = ± 0,84

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme an DNS von 0,44 mg = 6%.

Die Steigerung ist statistisch nicht gesichert

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme an RNS von 0,7 mg = 4%.

Die Steigerung ist statistisch nicht gesichert

Zu Tabelle III

In der Niere ließ sich nur eine geringe Verschiebung der Nukleinsäurewerte zugunsten der Versuchstiere ermitteln.

Bei der DNS wurden die oft nur unbedeutenden Zunahmen von ebensolchen Abnahmen fast aufgewogen. Die verbleibende Differenz ist statistisch nicht gesichert.

Bei der RNS verhält es sich ähnlich, nur sind Zu- und Abnahmen etwas höher. Die durchschnittliche Differenz von 0,70 mg war mit einer Streuung von ± 0,845 statistisch nicht gesichert.

Tabelle IV

Nebennieren

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
15,3	8,5	— 6,8	24,7	32,7	+ 8,0
8,4	10,0	+ 1,6	28,2	28,9	+ 0,7
8,7	12,5	+ 3,8	28,0	31,0	+ 3,0
13,7	9,0	— 4,7	37,7	31,4	— 6,3
7,8	10,6	+ 2,8	29,5	31,6	+ 2,1
10,3	8,3	— 2,0	31,0	21,6	— 9,4
9,8	10,2	+ 0,4	30,7	31,9	+ 1,2
10,2	10,9	+ 0,7	31,1	22,6	— 8,5
8,0	8,6	+ 0,6	37,3	26,6	— 10,7
11,4	15,7	+ 4,3	27,8	43,0	+ 15,2
10,5	13,0	+ 2,5	35,2	32,5	— 2,7
10,7	15,5	+ 4,8	24,1	31,0	+ 6,9
10,2	13,0	+ 2,8	31,2	42,5	+ 11,3
8,0	8,0	0	38,4	31,0	— 7,4
M = 12,1	M = 10,0	D = 0,56	M = 31,1	M = 31,2	D = 0,1
		St = ± 0,88			St = ± 0,38

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme an DNS von 0,56 mg = 5%.

Die Steigerung ist statistisch nicht gesichert.

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme an RNS von 0,1 mg = 0,3%.

Die Steigerung ist statistisch nicht gesichert.

Zu Tabelle IV

Auch bei den NS-Werten der Nebennieren fanden sich keine echten Differenzen. Die Zunahmen waren nur gering, die Streuungen relativ groß. Die Differenzen für DNSn = 0,56 mg und RNSn = 0,1 mg waren statistisch nicht gesichert.

Tabelle V

Milz

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
23,0	17,5	— 5,5	20,9	18,1	— 2,7
16,2	23,4	+ 7,2	23,2	26,4	+ 3,2
19,8	35,2	+ 15,4	21,7	31,9	+ 10,2
31,9	20,8	— 11,1	32,7	23,2	— 9,5
29,0	17,6	— 11,4	34,4	26,5	— 7,9
22,9	14,8	— 8,1	14,8	17,0	+ 2,2
20,6	33,1	+ 12,5	34,4	37,6	+ 3,2
24,0	23,8	— 0,2	35,0	27,7	— 7,3
23,6	22,8	— 0,8	29,6	24,7	— 4,9
18,1	23,2	+ 5,1	24,9	26,0	+ 1,1
20,2	22,6	+ 2,4	27,4	26,1	— 1,3
23,0	23,2	+ 0,2	30,0	31,9	+ 1,9
20,8	23,3	+ 2,5	20,9	25,8	+ 4,9
27,2	—	—	36,7	—	—
M = 22,9	M = 23,2	D = 0,32	M = 26,8	M = 26,4	D = — 0,4
		St = ± 2,3			

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme an DNS von 0,32 mg = 1,4%.

Die Zunahme ist statistisch nicht gesichert

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen keine Zunahme an RNS;

die Differenz von 0,4 mg ist negativ

Zu Tabelle V

Die Nukleinsäuregehalte der Milz zeigten zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe keine Unterschiede.

Die Steigerung der DNS-Gehalte von 0,32 mg war durch die Streuung von ± 2,3 unglaubwürdig. Bei der RNS überwogen die Abnahmen.

Tabelle VI

Haut

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
3,8	2,7	— 0,9	6,3	4,4	— 1,9
4,6	4,2	— 0,4	11,6	13,7	+ 2,1
4,5	7,2	+ 2,7	7,4	6,7	— 0,7
2,6	6,3	+ 3,7	4,7	10,5	+ 5,8
2,0	2,1	+ 0,1	6,0	4,4	— 1,6
1,3	2,9	+ 1,6	4,3	6,5	+ 2,2
2,3	2,7	+ 0,4	5,0	5,3	+ 0,3
1,6	6,3	+ 4,7	5,7	7,4	+ 1,8
1,8	5,0	+ 3,2	2,9	8,2	+ 5,3
3,0	3,8	+ 0,8	7,3	8,1	+ 0,8
3,3	3,8	+ 0,5	9,7	8,8	— 0,9
5,7	4,0	— 1,7	6,4	8,1	+ 1,7
3,4	5,0	+ 1,6	7,2	6,3	— 0,9
3,1	4,3	+ 1,2	5,7	6,3	+ 0,6
M = 3,2	M = 4,31	D = 1,25	M = 6,43	M = 7,47	D = 1,04
		St = ± 0,54			St = ± 0,62

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme an DNS von 1,25 mg = 41%.

Die Steigerung ist mit p = 3,6 statistisch gesichert

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme an RNS von 1,04 mg = 17%.

Die Steigerung ist mit p = 1,1 statistisch gesichert

Zu Tabelle VI

Die Nukleinsäure-Werte der Haut waren bei den Versuchstieren fast durchwegs höher, als bei den Kontrollen. Die DNS-Gehalte zeigten eine Steigerung von 1,25 mg und waren mit p = 3,6 statistisch gesichert.

Bei den RNS-Werten wirkten sich einige Abnahmen ungünstig auf das Ergebnis aus. Trotzdem ließ sich auch hier ein Anstieg der RNS-Gehalte bei den Versuchstieren mit statistischer Sicherheit erkennen.

Tabelle VII

Speiseröhre

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
3,1	1,7	— 1,4	7,2	11,5	+ 4,3
2,7	1,1	— 1,6	4,9	7,8	+ 2,9
1,1	1,9	+ 0,8	7,6	10,1	+ 2,5
2,1	1,4	— 0,7	9,0	5,1	— 3,9
1,5	0,6	— 0,9	9,6	6,4	— 3,2
1,8	2,5	+ 0,7	3,7	8,6	+ 4,9
1,9	1,0	— 0,9	9,7	4,3	— 5,4
1,1	1,6	+ 0,5	4,9	4,3	— 0,6
2,4	2,3	— 0,1	7,7	7,9	+ 0,2
1,9	1,9	0	8,0	7,8	— 0,2
2,7	3,2	+ 0,5	8,7	11,0	+ 2,3
1,3	1,4	+ 0,1	9,2	4,1	— 5,1
1,5	2,6	+ 1,1	4,1	11,5	+ 7,4
M = 1,97	M = 1,84	D = — 0,13	M = 7,23	M = 7,87	D = 0,64
					St = ± 1,15

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen keine Zunahme an DNS.

Die Differenz von 0,13 mg ist negativ

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme an RNS von 0,64 mg = 9%

Die Steigerung ist statistisch nicht gesichert

Zu Tabelle VII

Bei den DNS-Gehalten der Speiseröhre überwogen die negativen Differenzen. Die Zunahme der RNS-Werte war bei der großen Streuung der Differenzen unbedeutend und statistisch nicht gesichert.

Tabelle VIII

Gehirn

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
1,8	—	—	—	—	—
3,0	2,8	— 0,2	11,2	12,7	+ 1,5
4,6	4,2	— 0,4	6,8	4,6	— 2,2
1,4	5,1	+ 3,7	3,2	10,5	+ 7,3
3,5	1,3	— 2,2	8,0	2,8	— 5,8
0,7	1,9	+ 1,2	3,0	3,7	+ 0,7
4,6	2,5	— 2,1	10,8	5,6	— 5,2
1,5	2,1	+ 0,6	4,5	4,6	+ 0,1
4,0	4,2	+ 0,2	7,1	7,4	+ 0,3
1,7	4,3	+ 2,6	4,8	6,6	+ 1,8
2,2	2,8	+ 0,6	5,5	7,5	+ 2,0
3,7	2,0	— 1,7	5,0	5,5	+ 0,5
3,3	2,8	— 0,5	7,0	4,7	— 2,3
1,0	2,8	+ 1,8	2,4	5,2	+ 2,8
M = 2,6	M = 2,97	D = 0,37	M = 6,19	M = 6,24	D = 0,05
		St = ± 0,47			St = ± 0,96

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme an DNS von 0,37 mg = 14,2%.

Die Differenz ist statistisch nicht gesichert

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine Zunahme an RNS von 0,05 mg = 0,8%.

Die Differenz ist statistisch nicht gesichert

Zu Tabelle VIII

Bei den Gehirnanalysen ließ sich nur ein geringer Anstieg der Nukleinsäure-Werte der Versuchsgruppe erkennen. Die Streuungsbreite war besonders bei den RNS-Werten groß und stellte eine echte Zunahme sehr in Frage. Hier wirkten sich zwei relativ große Abnahmen von 5,8 mg beziehungsweise 5,2 mg sehr ungünstig auf das Endergebnis aus.

Tabelle IX

Leber

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
2,2	1,2	— 1,0	14,5	15,5	+ 1,0
2,9	2,7	— 0,2	26,1	26,6	+ 0,5
3,9	4,9	+ 1,0	13,1	18,5	+ 5,4
3,6	3,9	+ 0,3	20,3	24,2	+ 3,9
3,3	3,0	— 0,3	29,5	24,0	— 5,5
2,0	2,4	+ 0,4	13,2	13,2	+ 0,1
1,8	3,3	+ 1,5	14,3	29,0	+ 14,7
2,8	4,7	+ 1,9	13,6	21,6	+ 8,0
2,0	4,7	+ 2,7	18,5	28,2	+ 9,6
2,9	4,5	+ 1,6	13,5	20,6	+ 7,1
2,5	3,3	+ 0,8	18,6	31,2	+ 12,6
2,8	4,9	+ 2,1	29,0	33,3	+ 4,3
3,3	4,9	+ 1,6	13,4	26,6	+ 13,2
2,7	4,2	+ 1,5	22,1	26,5	+ 4,4
M = 2,76	M = 3,92	D = 1,16	M = 18,55	M = 24,23	D = 5,68
		St = ± 0,28			St = ± 1,18

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme an DNS von 1,16 mg = 42%.

Die Differenz ist mit
p = 0,38
statistisch gut gesichert.

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme an RNS von 5,68 mg = 30,5%.

Die Differenz ist mit
p = 0,1
statistisch sehr gut gesichert

Zu Tabelle IX

Beide Nukleinsäuren der Leber zeigten in den Versuchen eine signifikante Zunahme ihres Gehaltes nach Ueberflutung der Versuchstiere mit Vitamin E gegenüber den Kontrollen, die nur das Lösungsmittel erhielten.

Die durchschnittliche Zunahme der DNS betrug 1,16 mg. Bei drei Versuchspaaren zeigte das Kontrolltier höhere DNS-Werte. Durch den t-Test war diese Zunahme mit p = 0,38 gut gesichert.

Die Differenz der RNS Gehalte zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe betrug durchschnittlich 5,68 mg.

Bei einer Streuung von ± 1,18 war diese Steigerung mit p = 0,1 sehr gut gesichert.

Tabelle X

Herz

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
4,6	4,2	— 0,4	15,5	14,8	— 0,7
5,4	3,0	— 2,4	21,5	16,5	— 5,0
5,8	5,4	— 0,4	11,2	9,6	— 1,6
2,7	5,0	+ 2,3	11,1	15,4	+ 4,3
3,8	5,1	+ 1,3	13,2	9,9	— 3,3
4,8	4,2	— 0,6	18,7	11,6	— 7,1
4,2	5,2	+ 1,0	10,2	14,8	+ 4,6
4,0	2,7	— 1,3	10,0	13,5	+ 3,5
5,7	2,9	— 2,8	10,9	10,5	— 0,4
6,9	3,2	— 3,7	18,2	13,5	— 4,7
3,2	5,5	+ 2,3	13,2	19,8	+ 6,6
5,9	5,2	— 0,7	10,5	15,8	+ 5,3
3,5	4,8	+ 1,3	10,3	14,0	+ 3,7
4,3	2,6	— 1,7	10,4	9,8	— 0,6
M = 4,62	M = 4,2	D = — 0,42	M = 13,2	M = 13,5	D = 0,3
				St = ± 1	

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen keine Zunahme an DNS.

Die Differenz ist negativ und statistisch nicht gesichert

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme an RNS von 0,3 mg = 2,2%.

Die Differenz ist statistisch nicht gesichert

Zu Tabelle X

Die DNSn im Herzen der Versuchstiere zeigten gegenüber den Kontrollen in $^3/_4$ der Fälle eine Abnahme. Die Zunahmen waren unbedeutend.

Die Steigerung der RNS war mit 0,3 mg nicht überzeugend und war statistisch nicht gesichert.

Tabelle XI

Lunge

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
8,6	7,6	— 1,0	13,3	16,2	+ 2,9
13,5	9,8	— 3,7	19,2	15,0	— 4,2
12,2	8,6	— 3,6	11,7	11,6	— 0,1
9,9	12,2	+ 2,3	21,4	20,8	— 0,6
9,9	11,9	+ 2,0	14,3	13,1	— 0,6
11,3	7,1	— 4,2	15,1	10,6	— 4,5
10,2	11,2	+ 1,0	15,2	18,6	+ 3,4
9,0	6,3	— 2,7	14,7	10,2	— 4,5
10,9	7,4	— 3,5	13,2	12,4	— 0,8
10,4	8,4	— 2,0	13,8	12,1	— 1,7
10,8	12,9	+ 2,1	15,6	19,6	+ 4,0
12,1	8,5	— 3,6	9,5	9,7	+ 0,2
8,1	9,8	+ 1,7	10,3	17,5	+ 7,2
11,3	9,3	— 2,0	12,3	16,2	+ 3,9
M = 10,57	M = 9,34	D = — 1,23	M = 14,25	M = 14,94	D = 0,7
					St = ± 0,88

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen keine Zunahme an DNS.

Die Differenz ist negativ und statistisch nicht gesichert

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme an RNS von 0,7 mg = 4,9%.

Die Differenz ist statistisch nicht gesichert.

Zu Tabelle XI

Auch in der Lunge überwogen bei den DNS-Werten die Abnahmen. Die durchschnittliche Differenz war hier — 1,23 mg.

Die Zunahme von 0,7 mg bei der RNS war durch eine Streuung von ± 0,88 sehr in Frage gestellt.

Tabelle XII

Muskel

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
1,6	1,2	— 0,4	5,5	6,0	+ 0,5
1,6	1,0	— 0,6	6,5	9,5	+ 3,0
1,8	1,5	— 0,3	5,7	5,6	— 0,1
1,8	1,5	— 0,3	5,8	11,0	+ 5,2
1,4	2,5	+ 1,1	9,9	12,1	+ 2,2
1,7	1,2	— 0,5	3,8	3,6	— 0,2
2,1	1,6	— 0,5	4,9	7,2	+ 2,3
1,6	1,8	+ 0,2	6,7	7,3	+ 0,6
1,2	1,4	+ 0,2	3,2	7,3	+ 4,1
0,9	1,7	+ 0,8	4,5	3,9	— 0,6
0,9	2,1	+ 1,2	4,4	8,8	+ 4,4
1,0	1,1	+ 0,1	4,5	5,6	+ 1,1
0,8	2,0	+ 1,2	3,1	9,8	+ 6,7
1,7	0,7	— 1,0	5,4	5,0	— 0,4
M = 1,37	M = 1,52	D = 0,15	M = 5,26	M = 7,32	D = 2,06
		St = ± 0,19			

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme an DNS von 0,15 mg = 10,9%.

Die Differenz ist statistisch nicht gesichert

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme an RNS von 2,06 mg = 39%.

Die Steigerung ist mit p = 0,53 statistisch gut gesichert

Zu Tabelle XII

In der Muskulatur ließ sich eine Zunahme der Nukleinsäuren nur bei der RNS mit statistischer Sicherheit ermitteln.

Bei den DNS-Werten hielten sich Zu- und Abnahmen beinahe die Waage. Außerdem ließ eine große Streuungsbreite keine sichere Aussage zu.

Die Zunahme von durchschnittlich 2,06 mg bei den RNSn Gehalten war dagegen mit p = 0,53 statistisch gut gesichert.

Die mittleren Differenzen für die Nukleinsäuregehalte der einzelnen Organe von Versuchs- und Kontrolltieren sind in der folgenden Uebersichtstabelle nochmals wiedergegeben.

Die mit „+++“ gekennzeichneten Zunahmen sind aufgrund des t-Testes sehr gut, die mit „++“ versehenen gut und die mit „+“ markierten einfach statistisch gesichert.

Uebersichts-Tabelle

	DNS		RNS	
	Mittelwerte der Differenzen in mg pro g Trockengewicht	stat. gesichert	Mittelwerte der Differenzen in mg pro g Trockengewicht	stat. gesichert
Organ				
Hoden	+ 2,5	+	+ 1,6	+
Darm	— 0,6		+ 0,6	
Niere	+ 0,4		+ 0,7	
Nebenniere	+ 0,6		+ 0,1	
Milz	+ 0,3		— 0,4	
Haut	+ 1,3	+	+ 1,0	+
Speiseröhre	— 0,1		+ 0,6	
Gehirn	+ 0,4		+ 0,1	
Leber	+ 1,2	++	+ 5,7	+++
Herz	— 0,4		+ 0,3	
Lunge	— 1,2		+ 0,7	
Muskel	+ 0,2		+ 2,1	+++

Mit Ausnahme der DNS-Gehalte in Darm, Speiseröhre, Herz und Lunge und des RNS-Gehaltes in der Milz läßt sich eine Zunahme der Nukleinsäuregehalte in allen untersuchten Organen nach Vitamin E-Applikation nachweisen.

Eine sichere Aussage über eine positive Beeinflussung der Nukleinsäuregehalte ist aber nur für die Organe möglich, bei denen das Ergebnis statistisch gesichert ist. Die statistische Sicherung ließ sich für die DNS-Zunahmen von Hoden, Haut und Leber und für die RNS-Zunahmen von Hoden, Haut, Leber und Muskel aufzeigen.

E. Diskussion

Die Ergebnisse zeigten, daß eine intravenöse Infusion von Vitamin E innerhalb von 2 Stunden zu signifikanten Erhöhungen der Desoxyribonnukleinsäure-Werte für die Organe Hoden, Haut, Leber und der Ribonukleinsäure-Werte für Hoden, Haut, Leber und Muskel führt. Bei einer Diskussion dieser Nukleinsäureveränderungen muß berücksichtigt werden, daß diese primärer bzw. sekundärer Natur sein können. Im ersteren Fall wird z. B. bei gleichbleibender Menge an Zellsubstanz der Nukleinsäure-Gehalt unmittelbar beeinflußt, während im zweiten Fall eine Veränderung der Zellsubstanz bei konstantem Nukleinsäuregehalt eine scheinbare Nukleinsäurebeeinflussung vortäuschen kann.

Derartige Gehaltsverschiebungen können z. B. durch unterschiedliche Wassergehalte der Gewebe auftreten. Eine solche Beeinflussung der hier vorliegenden Nukleinsäureergebnisse ist auszuschließen, da die ermittelten Nukleinsäurewerte auf Gewichtseinheit Trockensubstanz der untersuchten Organe bezogen wurden. Andererseits hätte in diesem Falle ein signifikanter Unterschied in den Frischgewichten der gesamten Organe von Versuchs- und Kontrolltieren auftreten müssen, der nicht zu verzeichnen war. Aus dem gleichen Grunde ist die mögliche Beeinflussung der Nukleinsäuregehalte durch unterschiedliche Fett-, Protein- oder Kohlehydratablagerung ebenfalls abzulehnen. Die hier beobachteten Effekte auf die Desoxyribonukleinsäure und Ribonukleinsäure sind somit als echte Nukleinsäurestimulationen zu deuten.

Im allgemeinen soll der Desoxyribonukleinsäure-Gehalt pro Zelle konstant bleiben, wie durch Untersuchungen von Cadwell und Mitarbeiter (41) und Thomson und Frazer (42) gezeigt werden konnte. Lediglich kurz vor der Zellteilung soll nach Swift (43) eine Erhöhung derselben stattfinden. Dieser Befund wird durch den Nachweis gestützt, daß nach der Mitose beide Tochterzellen ausschließlich neugebildete Desoxyribonukleinsäuren enthalten. Die in den eigenen Versuchen durch Vitamin E ausgelöste Erhöhung von Desoxyribonukleinsäure in den Organen Haut, Hoden und Leber könnten somit als Beginn einer Phase intensiver Zellvermehrung gedeutet werden. Die Frage, ob diese Stimulierung durch die von Young und Dinning (45) beschriebene Hemmung der Allantoin-Ausscheidung durch Vitamin E direkt verursacht wird, oder letztere lediglich die Folge der vermehrten Desoxyribonukleinsäure-Synthese ist, ist noch nicht entschieden und bedarf der weiteren Klärung.

Ribonukleinsäure-Zunahmen sind insbesondere bei erhöhter Zell-

leistung zu beobachten (46, 47). Diese Erkenntnis dürfte vermuten lassen, daß Vitamin E nicht die Vermehrung, sondern auch die Leistung der Zellen in den Organen Haut, Hoden, Leber und Muskel intensiviert. Damit sollte Vitamin E allgemein als Stimulans für anabole Prozesse in den genannten Organen anzusprechen sein. Ob sich diese Wirkung nur auf Haut, Hoden, Leber und Muskel beschränkt, sollte weiter überprüft werden. Es erscheint durchaus vorstellbar, daß bei der kurzen Einwirkungszeit von 2 Stunden in weiteren als den genannten Organen auf Grund langsamerer Stimulationen keine signifikante Vitamin E-Auswirkung auf den Nukleinsäure-Stoffwechsel zustande kam.

F. Zusammenfassung

Die für Vitamin E beobachtete Sparwirkung auf im Organismus vorhandenes Vitamin A läßt vermuten, daß Stoffwechselwirkungen des Vitamins A auch für Vitamin E zutreffen könnten.

Da in früheren Arbeiten ein Einfluß des Vitamins A auf die Nukleinsäuregehalte verschiedener Organe der Ratte beobachtet werden konnte, sollte in vorliegender Studie nachgewiesen werden, ob ähnliche Effekte auch für das Vitamin E zu beobachten sind.

Im Paarversuch wurden etwa 100 g schweren, männlichen Ratten mittels einer intravenösen, 2-stündigen Dauerinfusion 20 mg dl-α-Tocopherol in wässriger Emulsion im Vergleich zu Kontrolltieren, die lediglich das Emulsionsmittel erhielten, unter Urethannarkose appliziert.

Nach anschließender Tötung und Entblutung der Versuchstiere durch Decapitation wurden 12 Organe oder Teile derselben, nämlich Haut, Hoden, Darm, Nieren, Nebennieren, Milz, Speiseröhre, Gehirn, Leber, Herz, Lunge und Muskel entnommen und der chemischen Aufarbeitung zur Bestimmung von Desoxy- und Ribonukleinsäuren unterworfen. Durch paarweisen Vergleich der Nukleinsäuregehalte in den Organen von Versuchs- und Kontrolltieren konnte ermittelt werden, ob durch die Vitamin E-Applikation der Nukleinsäuregehalt zu oder abgenommen hatte.

Statistisch gesicherte Ribonukleinsäure-Zunahmen ließen sich in den Organen Hoden, Haut, Leber und Muskel ermitteln. Dabei stieg der Gehalt an Ribonukleinsäure in den Hoden um 6,7%, in der Haut um 17%, in der Leber um 30.5% und in der Muskulatur um 39%.

Statistisch gesicherte Zunahmen an Desoxyribonukleinsäure wurden in den Organen Hoden, Haut und Leber gemessen. Die Zunahmen betrugen hier für Hoden 22,0%, für Haut 41,0% und für Leber 42,0%.

Nach Diskussion der Versuchsergebnisse wird festgestellt, daß das Vitamin E mit großer Wahrscheinlichkeit einen unmittelbaren Einfluß auf den Nukleinsäure-Stoffwechsel in den Zellen oben genannter Organe ausübt.

G. Literaturverzeichnis

1. Evans, H. M.; Bishop, S.: Science **56**, 650, 1922
2. Abderhalden, R.: Vitamine, Hormone und Fermente **5**, 26, 1944
3. Tonutti, E.: Z. Vitaminforschung **13**, 1, 1943 und **9**, 349, 1939
4. Davies, A.W.; Moore, T.: Nature **147**, 794, 1941
5. Moore, T.: Biochem. J. **34**, 1321, 1940
6. Bacharach, A. L.: Quart. J. Pharmaz. Pharmacol **13**, 138, 1940
7. Gillivray, W. A.: Mc. J. Dairy Res. **19**., 119—26, 1952
8. Brüggemann, J.; Niesar, K. H.: Vitamine und Hormone **7**, 419, 1957
9. Mackenzie, I. B..: Amer. Pediatr. **13**, 346, 1954
10. Karrer, P.: Helvet. Chim., acta **21**, 520, 1938
11. Jakob, A.; Todd, A. R.; Work, T. S.: Nature **142**, 36, 1938
12. Bratzler, I.W.; Krukowsky, V.N.; Maynard, L.A.: J. Nutr. **42**, 59, 1950
13. Harris, P.L.; Grady. O.; Quaife, M. L.: J. Nutr. **46**, 459, 1952
14. Mason, K. E.: J. Nutr. **23**, 59, 1942
15. Emmerson, G. A.; Evans, H. M.: J. Nutr. **18**, 501, 1939
16. King, J.T.; Lee, Y.C.P.; Vischer, M. B.: J. Nutr. **57**, 111, 1955
17. Ingelmann-Sundberg, A.: Acta Endocrinol. **2**, 335, 1949
18. Culik, R.; Bacigalupo, F.A.; Thorp, F.jr.; Luecke, R.W.; Nelson, R.H.: J. Animal. Sci. **10**, 1006, 1951
19. Trerino, G. S.: Southwestern Vet. **4**, 17, 1951
20. Pappenheimer, A. M.; Goettsch, M. G.: Exper. Med. **59**, 35, 1934
21. Moore, Th.: Biochem. J. **34**, 1321, 1910
22. Bacharach, A. L.: Quart. J. Pharmaz.-Pharmacol. **13**, 138, 1940
23. Euler, H. v.; Numa, B.; Delein, M.: Naturwiss. **28**, 515, 1940
24. Evans, H. M.: Amer. Physiol. **99**, 477, 1932

25. Ames, S.R.; Harris, Ph.L.: Inter. Z. Vitaminforsch. **22**, 26, 1950

26. Abderhalden, R.: Vitamine, Hormone und Fermente **5**, 26, 1944

27. Hottinger, A.: Z. Vitaminforsch. **11**, 310, 1941

28. Levens, A.E.; Rösgen, M.: Münchner Med. Wschr. **92**, 339, 1950

29. Heinsen, H. A.: Dtsch. med. Wschr. **74**, 908, 1949

30. Frey, J.: Klin. Wschr. **27**, 348, 1949

31. Meer, v. d. M.; Vieuwerkirk, A. Th. M.: Biochem. biophys. Acta (Amsterdam) **7**, 263, 1951

32. Hess, W.; Viollier, G.: Helv. chim. acta **31**, 381, 1948

33. Sòs, J.; Vegh-Ellyi, P. V.; Kemeny, T.Z.: Vitamin-Hormon- und Fermentforschung **3**, 501, 1950

34. Mc. Lean, J. R.; Beveridge, J. M. R.: Canad. J. Med. Sci. **30**, 118. 1952

35. Adamstone, F. B.: Science **80**, 450, 1934

36. Young, J.M.; Dinning, J.S.: J. Biol. Chem. **193**, 743, 1951

37. Flaschenträger, B.; Lehnartz, E.: Physiol. Chem. I. S. 822, Springer Verlag Berlin 1951

38. Kosterlitz, J.: J. Physiol. **106**, 194, 1947

39. Mejbaum, W.: Hoppe-Seyler's Z. phys. Chem. **258**, 117, 1939

40. Bergold, G.; Pister, D.: Naturforsch. **36**, 406, 1948

41. Cadwell, P.C.; Machor, E.L.: J. Chem. Soc. **82**, 3151, 1950

42. Tompson, R.Y.; Frazer, S.C.: Exptl. Cell. Research **10**, 587, 1951

43. Swift, H. H.: Physiol Zool. **23**, 169, 1950

44. Daoust, R.; Bertalauffy, F. D.; Leblond, C. P.: J. biol. Chem. **207**, 405, 1954

45. Young, J.M.; Dinning, J.S.: J. biol. Chem. **193**, 743, 1951

46. Reichard, O.: Acta. chem. Scan. **4**, 861, 1950

47. Mirsky, A. E.: Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol. **12**, 143, 1947

48. Lamirande, de G.; Allard, Cl.; Cantero, A.: Cancer Res. **15**, 329, 1955

49. Dinning, J.S.; Cosgrove, jr. K. W.; Fitsch, C. D.; Day, P. L.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med. **91**, 632, 1950

Lebenslauf

Am 12. April 1933 kam ich, Brigitte Jobsky, als Tochter des Photographen Julius Soukup und seiner Ehefrau Gertrud, geborene Köhler, in Aussig an der Elbe zur Welt.

Nach vierjährigem Volksschulbesuch und einjährigem Besuch der Hauptschule in Aussig wurde ich im April 1946 mit meinen Eltern und meinem um 8 Jahre jüngeren Bruder vertrieben und trat nach einem Jahr Schulpause in die Knabenoberrealschule in Bad Tölz ein, die ich nach 6 Jahren verließ, um 1954 in der St. Anna-Oberrealschule in München das Abitur zu bestehen. Im Wintersemester 1954/55 begann ich das tierärztliche Studium an der Ludwig-Maximilians-Universität, das ich nach meiner Eheschließung im Oktober 1956 und der Geburt meines Sohnes im Juli 1958 ohne Unterbrechung mit dem Tierärztlichen Staatsexamen am 20. Juni 1958 abschloß.

Meine Bestallung als Tierärztin erhielt ich am 1. Februar 1959 und am 1. August gleichen Jahres habe ich mich in Penzberg/Obb. als praktische Tierärztin niedergelassen.

Zum Abschluß der Arbeit gilt mein besonderer Dank Herrn Prof. Dr. Dr. Brüggemann für die Überlassung des Themas und für die großzügig gewährten Arbeitsmöglichkeiten in seinem Institut. Ferner gebührt mein Dank Herrn Dr. Niesar, der mich bei der Durchführung der Versuche und der Abfassung der Arbeit beraten hat.

Buchdruckerei Hermann Höck, Penzberg/Obb.